

## POLAROGRAFIE A MEDICÍNA (očima internetového vyhledávače MEDLINE v údobí od roku 1997)

ROBERT KALVODA

Ústav fyzikální chemie J. Heyrovského, AV ČR, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8  
Kalvoda@jh-inst. cas. cz

Došlo 1.7.03, přijato 10.12.03.

Klíčová slova : polarografie, voltametrie, medicína

Polarografie našla záhy po svém zavedení do praxe značného uplatnění i v lékařských vědách, včetně farmacie – o tom svědčí ostatně i obsáhlá monografie M. Březiny a P. Zumana *Polarografie v lékařství, biochemii a farmacii* (vydalo SZN Praha, 1952), přeložená posléze do angličtiny, němčiny a ruštiny. Toto obsáhlé dílo zůstává bezpochyby stále vynikajícím zdrojem informací pro použití polarografie ve jmenovaných oborech, případně může být inspirací pro modifikaci starých, či výzkum nových analytických metod pro soudobý výzkum a praxi, realizovaný současným přístrojovým parkem.

Současný stav využití polarografie v různých oblastech medicíny (i farmacie) byl proveden studiem stavu publikací za posledních 5 let pomocí vyhledávače MEDLINE zadáním hesla POLAROGRAPHY a hesla charakterizujícího příslušnou oblast medicíny.

Tímto způsobem bylo zaznamenáno přes 500 prací (z toho zhruba třetina přísluší léčivům). Nutno ovšem respektovat několik překryvů a naopak též určité časové prodlení při zařazování publikovaných prací do MEDLINu, jakož i fakt, že hesla POLAROGRAPHY v těchto pracích nerespektují důsledně názvosloví IUPAC definující termín polarografie a termín voltametrie. Jestliže bylo nastaveno heslo POLAROGRAHY OR VOLTAMMETRY, tak bylo zaznamenáno za posledních pět let téměř 2000 prací – největší rozdíl mezi počtem prací pod heslem POLAROGRAPHY a druhým sdruženým heslem bylo ve skupinách DRUGS, DNA, PHARMACY, PHYSIOLOGY a hlavně IN VIVO MEASUREMENTS, kde byl nárůst osminásobný.

Pozoruhodným poznatkem je fakt, že využití polarografie/voltametrie v lékařských vědách se rozšiřuje z pole pouhého analytického stanovení léčiv a fyziologicky významných sloučenin na metody sloužící v různých *ex vivo* a *in vivo* aplikacích, jako např. při chorobách kardiovaskulárních a onkologických. Nelze ovšem podcenit ani rozsáhlé aplikace *in vivo* v oblasti neurologické či neurochemické (viz např.<sup>1,2</sup>, případně pro základní informace<sup>3</sup>) a metody diagnostické, z nichž nutno uvést snahy vytvořit specificky citlivé elektrochemické DNA-senzory (např.<sup>4</sup>)

založené na využití hybridizačních postupů. Při zatím předběžných laboratorních pokusech se jedná o diagnostiku některých chorob způsobených bakteriemi (např. TBC) nebo viry (např. HIV, hepatitis B). Mnoho prací je též věnováno studiu a indikaci poškození DNA toxickými látkami za účelem environmentálního monitoringu.

V oblasti kardiovaskulárních chorob se často jedná o polarografické sledování průběhu uvolňování oxidu dusnatého z léčiv např. nitroglycerinu<sup>5</sup>, který se zúčastňuje enzymatických reakcí vedoucích k tvorbě guanosinmonofosfátu působícího vasodilatačně. Ke stanovení „molekuly století“, jak je NO často nazýván, se nejčastěji používá uhlíkové vláknové mikroelektrody modifikované porfyrinem a Nafionem. Oxid dusnatý se na této elektrodě oxiduje při +550 mV (Ag/AgCl), zatím co při druhém píku při +700 mV se oxiduje dusitanový anion<sup>6</sup>. (Standard se připravuje z nasyceného roztoku 2mM-NO ve vodě). Vzhledem k tomu, že se NO snadno oxiduje vzduchem (a pík NO ale i NO<sub>2</sub><sup>-</sup> se rychle s časem snižuje), je při některých měřeních *ex vivo* dávana přednost amperometrickému měření při +550 mV. Toto amperometrické měření bylo autory aplikováno na měření NO vznikajícího enzymatickou reakcí z L-argininu v endotelových buňkách řezů křídla aorty a sledování jeho inhibice adrenalinem doprovázené stahem tkáně a zpětné relaxace oxidem dusnatým. Stanovení NO se také provádí<sup>7</sup> ve speciální plynotěsné komůrce pomocí jeho reakce s O<sub>2</sub> na nitrit, jehož množství se určí polarograficky poklesem koncentrace kyslíku. Metodu citování autoři používají pro stanovení v zásobních roztocích NO, v suspenzích endotelových buněk apod. Obdobné aplikace polarografie na stanovení NO v souvislosti s nitrovasodiláčními léčivy jsou značně hojné. Dále se sluší uvést studium enzymů<sup>4-8</sup> konvertujících angiotenzin I na angiotenzin II, způsobující zúžení cév, studium mitochondriální respirační funkce při ischemické chorobě, zjišťování vlivu vybraných látek (např. i koenzymu Q 10) na protektivní účinek při ischemických chorobách<sup>5,9</sup>, atd.

V onkologii se často jedná o tzv. polarografické měření *in vivo* parciálního tlaku kyslíku v tumorech: snížená dodávka kyslíku tkáním – hypoxie totiž znamená sníženou citlivost či vůbec necitlivost na léčbu ozařováním či chemoterapeutiky, (a tudíž volbu jiného způsobu léčby). Parciálním tlakem kyslíku je také ovlivněna volba dávky radiačního záření. K měření parciálního tlaku se mimo jiné používá také polarografické metody, nazývané eppendorfovou histografií (Kimoc 6650, Sigma pO<sub>2</sub> – Histogram, fy Eppendorf, Hamburk-Eppendorf, Německo) (viz např.<sup>10,11</sup>). Při této metodě se používá tzv. eppendorfské jehly, což je do jisté míry obdoba Clarkova čidla na kyslík ovšem v úpravě, aby se celé čidlo vměstnalo do trubičky průměru kolem 5 až 50 mikrometrů. Tato jehla se vpichuje buď přímo do podkožních tumorů, nebo zavádí pomocí trokaru. Hloubka vpichů a jejich poloha se kontroluje

počítačem, který ovládá mikromanipulátor posunující jehlu všemi směry (za sonografické kontroly) tak, aby se získalo co nejvíce měrných bodů (v centrální části tumoru byla naměřena nižší tenze kyslíku než v periferních oblastech). Naměřené hodnoty  $pO_2$  v tumorech se pohybují v rozmezí od 5 torr a méně (u hypoxidických karcinomů) až do hodnot kolem 25 až 50 torr. Normální tkáň jeví  $pO_2$  kolem 60 torr, jak před, tak i po ozáření<sup>11</sup>. Práce<sup>12</sup> se zabývá mechanismy, které vedou k shora zmíněné resistenci na léčbu hypoxidických tumorů ozářováním či chemoterapeutiky a uvažuje o postupech, které by mohly tuto nežádoucí odolnost eliminovat. Tak např. lepší vyhlídky na radioterapii a chemoterapii přineslo okysličení tumorů elektrostimulací<sup>13</sup>. Předběžné studie nasvědčují, že v některých případech po ozáření hypoxidického tumoru došlo k reoxidaci, např. z hodnoty  $pO_2$  3,2 torr na 6,5 torr<sup>14</sup>. V některých případech byly tyto změny i podstatně větší, viz např.<sup>15</sup>. Je usuzováno, že tato reoxidace by v některých případech rakovinných onemocnění mohla mít určitý prognostický význam pro její terapii, některé práce ale uvádějí, že histografická metoda není vždy dostatečně selektivním testem pro volbu léčby<sup>16</sup>.

V souvislosti se zmíněným měřením parciálního tlaku kyslíku lze upozornit na konstrukci Clarkova mikročidla o povrchu pracovní elektrody menším než 0,01 mm<sup>2</sup> (cit.<sup>17</sup>), používaného k měření spotřeby kyslíku kuřecího embrya pro toxikologické účely. Aby se získalo více měrných bodů, bylo čidlo rozděleno na sedm symetricky umístěných měrných elektrodových polí na ploše o průměru 0,05 mm. Toto čidlo by bylo jistě vhodné i pro zmíněné onkologické aplikace. Z dalších onkologických aplikací polarografie či voltametrie lze ještě zmínit zjišťování protirakovinové aktivity měřením ribonukleotidové reduktasy, studium karcinogenní aktivity chemických látek, studium zhášení hydroxylových radikálů, narušení řetězce DNA, interakce DNA chemickými sloučeninami případně kancerostatiky a jejich metabolity, atd.

Lékařskými aplikacemi často prolíná problematika metabolismu kyslíku – ať již jde o mitochondriální respirační řetězec<sup>18</sup>, enzymy dýchacího řetězce a jeho poruchy, inhibitory oxidasy, v neurochemii, efekt různých látek na respiraci a aktivitu enzymů při přenosu elektronu. Dále se jedná o sledování rychlosti oxidativní fosforylace – o poměr  $ADP/O_2$ , detekci respiračních efektů v buněčných kulturách<sup>19</sup>, měření různých interferencí a inhibicí léčiv. Zde budiž znovu poukázáno na rozsáhlé využití polarografie při stanovení léčiv v různých matricích (např. v tělních tekutinách).

V rámci sledování významu polarografie v lékařských vědách by ovšem také neměl být opomenut význam polarografie v environmentální analýze.

Popsanými aplikacemi zdaleka nekončí využití elektrochemických metod v lékařských vědách, jak se lze přesvědčit např. nastavením vhodných hesel na internetových vyhledávacích.

## LITERATURA

1. Boulton A. A., Baker G. B., Adams R. N.: *Voltammetric Methods in Brain Systems*. Hermana Press, USA 1999.
2. Troyer K. P., Heien M. L. A. V., Venton B. J., Wightman R. M.: *Curr. Opin. Chem. Biol.* 6, 696 (2002).
3. Wightman R. M., v knize: *Electrochemistry in Research and Development* (Kalvoda R. a Parsons R., eds), str.189. Plenum Press, New York 1985.
4. Jelen F., Yosypchuk B., Kouřilová A., Novotný L., Paleček E.: *Anal. Chem.* 74, 4788 (2002).
5. Pataritza J., Penke B., Balogh G. E., Papp J. G.: *J. Pharmacol. Toxicol. Methods* 39, 91 (1998).
6. Crespi F., Campagnola M., Neudeck A., McMillan K., Rossetti Z., Pastorino A., Garbin U., Fratta-Pasini A., Reggiani A., Gaviraghi G., Cominacini L.: *J. Neurosci. Methods* 109, 59 (2001).
7. Jensen B. O., Skeidsvoll J., Holmsen H.: *J. Biochem. Biophys. Methods* 35, 185 (1997).
8. Belai F., Al-Zaagi I.-A., Abounassif M. A.: *J. AOAC Int.* 84, 1 (2001).
9. Crestanello J. A., Doliba N. M., Babsky A. M., Niborri K., Osbakken M. D., Whitman G. Jr.: *J. Surg. Res.* 102, 221 (2002).
10. Seddon B. M., Honess D. J., Vojnovic B., Tozer G. M., Workman P.: *Radiat. Res.* 155, 837 (2001).
11. Doll C. M., Milosevic M., Pintilie M., Hill R. P., Fylesa A. W.: *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 55, 1239 (2003).
12. Shannon A. M., Bouchier-Hayes D. J., Condron C. M., Toomey D.: *Cancer Treatment Rev.*, v tisku.
13. Lavo B., Robaina F., Morera J., Ruiz-Egea E., Pérez J. L., Macias D., Caramés M. A., Catalá L., Hernández M. A., Günderoth M.: *J. Neurosurg.* 96,94 (2002).
14. Dietz A., Vanselow B., Rudat V., Conradt Ch., Weindauer H., Kallinovski F., Dollner R.: *Head and Neck* 25, 50 (2003).
15. Cooper R. A., West C. M., Logue J. P., Davidson S. E., Miller A., Roberts S., Statford I. J., Honess D. J., Hunter R. D.: *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 45 (1),119 (1999).
16. Rudat V., Stadler P., Becker A., Vanselow B., Dietz A., Wannemacher M., Molls M., Dunst J., Feldmann H. J.: *Strahlentherapie und Onkologie* 177, 462 (2001).
17. Šerák L., Jelínek R., Hauser V.: *J. Electroanal. Chem.* 226, 193 (1987).
18. Blanche S., Tardieu M., Rustin P., Slama A., Barret B.: *Lancet* 354 (9184), 1084 (1999).
19. Scott A. E., Cosma G. N., Frank A. A., Wells R. L., Gardner H. S.: *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 171, 149 (2001).

**R. Kalvoda** (*J. Heyrovsky Institute of Physical Chemistry, Academy of Sciences of the Czech Republic, Dolejškova 3, 182 23 Praha 8*): **Polarography and Medicine (from the Viewpoint of the MEDLINE Internet Searcher)**

In studying publications mentioning the utilization of polarography/voltammetry in various branches of medicine or pharmacy in the last five years (ca. 2000), it was found that a certain focus of their applications is in cardiovascular and oncological disciplines. In the former field, it is particularly the release of nitrogen oxide in studies of the vasodilation effect of drugs. In oncology, the oxygen partial pressure in tumours is measured voltammetrically *in vivo*.

Bioinformatics  
Methods Technology Software



Vážená paní, vážený pane,  
dovolujeme si Vás pozvat na seminář

## BIOINFORMATIKA II

### Metody, Technologie a Software

**Datum konání:** 13. 10. 2004, 13.00–18.00 h

**Místo:** Pavilon E – Press Centrum – brněnské výstaviště

**Jednací jazyk:** angličtina

**Plenární přednáška:** Dr. Janusz Bujnicki, IIMB, Polsko

„*Předpověď struktury proteinů rozpoznáváním proteinových foldů a kompletací fragmentů*“

**Okruhy témat:** biologické, chemické a lékařské databáze – genomika – proteomika  
– fylogenetická analýza – počítačové modelování – strukturní bioinformatika

**Pro více informací a potvrzení účasti:** Jiří Damborský, Loschmidt prof., Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita, Kotlářská 2, 602 00 Brno, tel.: 541 129 377

<http://ncbr.chemi.muni.cz/bioinf>